

氏名	Islam Nazneen Naher		
学位の種類	博士(工学)		
学位記番号	第5144号		
学位授与年月日	平成20年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項		
学位論文名	Synthesis and degradation of acyl peptide by CoA and ATP independent <i>N</i> -myristoylation enzymes from <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Escherichia coli</i> (緑膿菌と大腸菌由来のCoA,ATP非依存 <i>N</i> -ミリスチル化酵素によるアシル化ペプチドの合成と分解)		
論文審査委員	主査教授 東 雅之	副査教授 大嶋 寛	
	副査教授 田辺利住		

論文内容の要旨

生体膜に蛋白質を固定する方法の一つとして、パルミトイル化やミリスチル化などの脂質修飾が知られている。蛋白質のミリスチル化反応では、アシルCoAシンターゼによりミリスチン酸からミリスチルCoAを合成し、次に*N*-ミリスチル転移酵素によりミリスチル基を蛋白質の*N*-末端グリシンのアミノ基に転移する。この反応には、エネルギー化合物であるCoAやATPが必要とされる。本論文では、CoAやATPが存在しない条件で*N*-ミリスチル化反応を1段階で触媒する酵素を緑膿菌と大腸菌から見だし、それらを精製し、基質特異性などの諸性質を明らかにした。

第1章では、緑膿菌の菌体破砕液から目的酵素を精製し、ATPとCoAが存在しない条件で、ミリスチル化反応を触媒することを明らかにした。また、反応産物の解析から、オクタペプチドの*N*-末端グリシンに、ミリスチル基が結合していることを明らかにし、これまでにない新規な反応であることを示した。さらに、酵素と基質の親和性も明らかにした。

第2章では、酵素の基質特異性について検討しており、基質として用いるペプチドには、少なくとも8アミノ酸残基が必要で、*N*-末端のグリシンをアラニンに変換しても反応が進むことから、*N*-ミリスチル転移酵素による反応に必要な*N*-末端のグリシンは、本酵素の反応には必ずしも必要でないことを明らかにした。また、もう一方の基質である脂肪酸について検討した結果、ミリスチン酸が基質として最適であることを示した。さらに、本酵素はミリスチルペプチドの合成だけでなく、それを分解する活性も有することを明らかにした。

第3章では、大腸菌の菌体破砕液にもCoAやATPが存在しない条件で*N*-ミリスチル化反応を触媒する活性を見いだした。また、緑膿菌から得た精製酵素の*N*-末端アミノ酸配列を利用した相同性検索により、酵素のアミノ酸配列を推定し、その配列と相同性を持つ大腸菌の蛋白質を見いだした。その遺伝子を取得し、酵素の大量発現系を構築した。菌体破砕液から高い純度まで酵素を精製し、大腸菌由来の酵素も同様の活性を有することを明らかにした。さらに、精製酵素を用いて酵素の諸性質を明らかにし、緑膿菌由来の酵素と基質特異性などについて比較検討を行った。

最後に、以上の研究成果について総括した。

論文審査の結果の要旨

近年、医薬や食品分野において蛋白質やペプチドの利用が普及しており、それらを修飾することにより、機能性の向上や新たな利用法が期待される。蛋白質やペプチドの脂質修飾の一つであるミリスチル化反応では、

アシルCoAシンテターゼによりミリスチン酸からミリストイルCoAを合成し、次に*N*-ミリストイル転移酵素により、蛋白質やペプチドの*N*-末端グリシンのアミノ基にミリストイル基を転移する反応が知られており、この反応にはエネルギー化合物であるCoAやATPが必要である。本論文では、CoAやATPに関係なくペプチドのミリストイル化を触媒する新規な酵素反応について検討した結果を、第1章から第3章にまとめている。

序章では、本研究の背景および目的について述べている。第1章では、エネルギー化合物非依存的に、ペプチドのミリストイル化を触媒する反応を見だし、緑膿菌の菌体破砕液から目的酵素を精製している。酵素反応産物の解析から、ペプチドの*N*-末端グリシンにミリストイル基が結合していることを明らかにし、これまでにない新規な反応であることを証明している。第2章では、酵素の基質特異性について検討している。基質として用いるペプチドについては、少なくとも8アミノ酸残基が必要で、*N*-末端のグリシンをアラニンに変換しても反応が進むことから、*N*-末端のグリシンは必ずしも必要でないことを明らかにしている。また、もう一方の基質である脂肪酸について、ミリスチン酸が基質として最適であることを明らかにしている。さらに、本酵素がミリストイルペプチド分解活性を有することも見いだしている。第3章では、精製酵素の*N*-末端アミノ酸配列を利用した相同性検索により、酵素のアミノ酸配列を推定し、その配列と相同配列を持つ大腸菌の蛋白質を見いだしている。遺伝子を取得した後、大量発現系を構築し、大腸菌の菌体破砕液から酵素を精製している。大腸菌由来の酵素にも、CoAやATPに関係なくペプチドのミリストイル化を触媒する活性を見いだしている。さらに、精製酵素を用いて酵素の諸性質を明らかにし、緑膿菌由来の酵素と比較検討を行っている。最後に、これらの結果を総括している。

以上の研究成果は、エネルギー化合物に依存しない新規な脂質修飾酵素を見だし、その諸性質を明らかにしたものであり、生物工学の発展に資することが大である。よって本論文提出者は博士（工学）の学位を授与される資格を有するものと認める。